昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*，April 2005，48（2）：155 – 160 ISSN 0454-6296

飞行对粘虫体内甘油酯积累与咽侧体活性的影响

李克斌[1,2]**，曹雅忠**[1 *]**，罗礼智**[1]**，高希武**[2]**，尹 姣**[1]**，胡 毅**[1]

（1. 中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100094； 2. 中国农业大学，北京 100094）

摘要：研究了粘虫 *Mythimna separata*（Walker）成虫飞行对甘油酯的恢复、保幼激素的滴度及飞行肌降解的影响，结果表明，不同日龄粘虫的飞行活动对其能源物质的积累及保幼激素分泌产生不同的影响。1 日龄蛾的飞行对粘虫这两方面产生的影响最大，其飞行个体能源物质的积累明显高于未飞行的对照个体；3 日龄飞行个体的能源物质积累与对照相当；但 5 日龄飞行个体则很难达到对照水平。1 日龄飞行个体咽侧体活性在 36 h 后明显高于对照，60 h 后已是对照的 10 倍，108 h 达到其峰值；3 日龄飞行个体咽侧体的活性稍高于对照，但差别不显著；5 日龄飞行个体的咽侧体活性则稍低于对照。不同日龄飞行对飞行肌的降解也产生不同的影响。1 日龄飞行个体的飞行肌在飞行后 6 天已经明显低于对照。3、5 日龄的飞行活动对其飞行肌降解的影响不明显。因此推测，粘虫咽侧体活化的关键时期可能在羽化后 1 ~ 3 天之间。

关键词：粘虫；飞行；能源物质；咽侧体；保幼激素

中图分类号：Q965 **文献标识码：**A **文章编号：**0454-6296（2005）02-0155-06

Influences of flight on energetic reserves and juvenile hormone synthesis by corpora allata of the oriental armyworm，*Mythimna separata*（Walker）

LI Ke-Bin[1,2]，CAO Ya-Zhong[1 *]，LUO Li-Zhi[1]，GAO Xi-Wu[2]，YIN Jiao[1]，HU Yi[1]（1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests，Institute of Plant Protection，Chinese Academy of Agricultural Sciences，Beijing 100094，China；2. China Agricultural University，Beijing 100094，China）

Abstract：The energetic reserves，juvenile hormone（JH）synthesis by corpora allata and breakdown of indirect flight muscles of the migratory oriental armyworm moth，*Mythimna separata*（Walker），as influenced by tethered flight at different days were assayed in the laboratory. The regeneration of energetic reserves of the moths flown for 12 hours on the 1st day after emergence was significantly higher than the unflown ones. The energetic reserves of the treatments flown for 12 hours on the 3rd day after emergence were lower than that of the control，but the difference was not significant. Moths flown for 12 hours on the 5th day after emergence displayed lower energetic reserves than that of the control throughout the test period. Differences in JH biosynthesis rates in female moths flown on different days after emergence were confirmed by the radiochemical assay. JH biosynthesis rates in female moths flown on the 1st day was higher than that of the control after 36 hours，and then underwent a sharp increase，peaked after 108 hours. On the 5th day after emergence，JH biosynthesis rates in flown females were lower than that of the control，but not significantly. The flight muscle of female flown 12 hours on the 1st day after emergence degenerated prior to that of the control. Therefore，the 1st to 3rd day in adult armyworm could be considered to be the critical period for activation of the corpora allata.

Key words：*Mythimna separata*；flight；energetic reserves；corpora allata；juvenile hormone

迁飞是昆虫在长期进化中形成的一种适应环境的生存策略。有关迁飞对生殖的影响，前人已经做了不少研究（Willers *et al*.，1987；Gunn and Gatehouse 1989；Mason *et al*.，1992；Rankin and Burchsted，1992）。John 早在 1969 年就提出‘卵子发生-飞行拮抗综合症”，其本质主要是由于咽侧体所分泌的保幼激素调节，这种观点被后来的其他学者所赞同（Rankin *et al*.，1986；Rankin，1991；Dingle，1996）。但有研究结果显示迁飞不影响个体的产卵量，迁飞个体反而比非迁飞个体产卵量高（Rankin and Burchsted，1992）；还有的昆虫飞行后产卵前期缩短，产卵量并不降低（Highnam *et al*.，1964；Rygg，

基金项目：国家重点基础研究发展规划‘973 ”项目（G2000016206）；国家自然科学基金项目（39770497）

作者简介：李克斌，男，1968 年 3 月生，副研究员，博士，从事昆虫生理生化研究，E-mail：likebin54@163.com

* **通讯作者** Author for correspondence，E-mail：yazhongcao@sina.com

收稿日期 Received：2004-09-29；**接受日期** Accepted：2005-01-22

1996)。可见，这类昆虫的迁飞活动对其生殖行为并不产生负面影响。

昆虫的取食一方面为生命活动提供物质基础，另一方面取食行为和食物可以作为激活内分泌的信号（龚和和翟启慧，1979）。而能源物质的积累与昆虫飞行和生殖有直接的关系，Luo 等（2001）用外源保幼激素类似物处理粘虫后发现其能源物质的积累与对照有明显差别，保幼激素与昆虫的能源积累有着密不可分的联系。昆虫的卵巢发育或产卵的迟早主要受咽侧体分泌保幼激素水平的影响，成虫如果缺少这种物质或其滴度较低，雌虫卵子则难以成熟，但有助于迁飞。较高的保幼激素水平又可加速卵巢的发育，导致飞行肌降解，从而抑制迁飞。在许多昆虫中，已经明确保幼激素具有影响飞行肌发育和溶解的功能。此外，保幼激素也参与性信息素合成与分泌的调控（Kobayashi *et al*., 1994）。

关于粘虫 *Mythimna separata*（Walker）飞行与生殖的关系已做过不少研究与探索，罗礼智等（1999）的研究结果表明，不同日龄的飞行处理对粘虫的生殖会产生几种不同的影响作用，1 日龄飞行会加速卵巢发育并使产卵提前、产卵量增加；3 日龄飞行对生殖无明显影响；而 5 日龄的飞行会延迟产卵及降低产卵量。但有关飞行对昆虫体内激素水平产生影响从而影响生殖的报道并不多见。Highnam 和 Haskell（1964）等对飞蝗的研究发现，卵子发生受到咽侧体活性周期性变化的影响。此外，在迁徙蚱蜢中也有类似现象，长时间的飞行会刺激雌虫神经分泌细胞分泌促性腺激素，从而加速卵巢的发育。本项研究旨在探讨飞行对粘虫生殖行为产生影响是否由于咽侧体的活性变化而引起保幼激素的分泌提前所致？飞行肌的降解会不会因为保幼激素滴度的改变而发生变化？作者从飞行对咽侧体活性、能源物质再积累及飞行肌降解影响等方面的研究结果阐明有关问题。

1 材料与方法

1.1 虫源和实验药剂

供试粘虫成虫是从河南郑州采集的越冬代迁入成虫在室内繁殖 3 代后的成虫。幼虫用玉米苗饲养，密度为 150 头/箱（75 cm × 34 cm × 34 cm），每天更换饲料。幼虫老熟后，在箱内加入 3 cm 厚含水量约 10% 的土粒供其化蛹、羽化。成虫羽化后，立刻配对置于直径 8.5 cm 高 20 cm 的塑料罩内，用 5% 的蜂蜜水饲养。饲养温度（24 ± 1）℃，相对湿度 70%，光周期 12L:12D。

[甲基 - ^{3}H] 甲硫氨酸为 Gibco 公司产品；Ficoll 400，北方同正公司进口分装；TC199 由中国科学院动物研究所关雪辰教授惠赠；液闪计数中所用的试剂均为中国农业科学院原子能研究所汤炽昌研究员、肖京诚研究员提供。

1.2 实验处理

实验分 1、3、5 日龄蛾不同吊飞处理，吊飞时间为 12 h，吊飞时段在 20:00 到次日 8:00；吊飞处理参考罗礼智等（1999）的方法进行。吊飞完成后待测粘虫剪掉其背部的吊环，用 5% 蜂蜜水配对饲养，然后按不同的要求取样进行有关测定。并选取同日龄不吊飞粘虫蛾作对照。每处理和对照均设 6 个重复。

1.3 粘虫体内甘油酯含量测定

取不同日龄飞行后不同时段的粘虫，液氮快速杀死并置冰箱中保存备用。甘油酯的测定按照李克斌和罗礼智（1998）的方法进行。

1.4 体内保幼激素滴度测定

粘虫咽侧体活性的测定方法参考 Feyereisen 和 Tobe（1981）的昆虫咽侧体释放保幼激素快速测定方法进行。在生理盐水中解剖出带有心侧体的咽侧体，放在 100 μL TC199 培养液（培养液内含有 25 mmol/L 的 HEPES 缓冲剂，10 mg/mL Ficoll 400 及[甲基 - ^{3}H] 甲硫氨酸）中。将解剖出的一对咽侧体在上述培养液内于 30℃培养 3 h。培养后将 300 μL 异辛烷加入培养液中并充分混合后在 3 000 × g 离心 5 min。咽侧体新合成并释放到培养液内带有同位素标记的保幼激素被提取到异辛烷相内，然后取定量的异辛烷提取液加入到盛有 5 mL 丁基-PBD 闪烁液的闪烁瓶内（闪烁液成分，甲苯中含有 1% 丁基-PBD，10% 乙醇，5 mmol/L 乙酸），用 LKB 液闪计数测定其放射性（CPM）。实验数据进行方差分析后用 Duncan 多重比较法检测处理间的差异显著性。

1.5 背纵肌重量测定

取不同日龄的粘虫雌蛾胸部放入 50℃烘箱中烘干 12 h，取出后仔细分离解剖出飞行肌的背纵肌，并仔细剔除附着于背纵肌上的其他组织，用电子天平称量其重量。

2 结果与分析

2.1 飞行对粘虫能源物质积累的影响

1日龄粘虫分别吊飞12 h后使其正常取食补充营养，测定体内甘油酯的恢复情况。结果表明：1日龄粘虫蛾飞行处理完成后取食1天即能使体内甘油酯的含量恢复到高于对照的水平；随日龄增加，处理组粘虫体内甘油酯的含量均高于对照。这种趋势在雌、雄蛾中表现的相同，但在雌蛾中处理与对照的差异更明显（图1）。罗礼智等（1999）曾研究过飞行对粘虫生殖的影响，结果显示，1日龄粘虫适当地飞行对其生殖行为有较大的促进作用。而粘虫雌蛾的卵子发生也与能源物质的积累有着密切的相关性。我们所测定的结果证明甘油酯的恢复作用是该阶段飞行有利于粘虫生殖的物质基础。

针对不同发育阶段的粘虫蛾飞行后的产卵前期及产卵量明显不同的现象（罗礼智等，1999），对3、5日龄粘虫飞行12 h后补充营养的成虫体内甘油酯含量进行了测定。结果表明：3日龄粘虫雌蛾甘油酯的含量在飞行后1天内即迅速恢复到与对照相同的水平，但随着日龄的增加，其恢复能力与对照差别不明显；3日龄粘虫雄蛾除了飞行后不久即补充营养者体内甘油酯含量明显低于对照外，其他日龄的差别不明显（图2）。5日龄雌蛾在飞行后补充营养2天其体内甘油酯含量才能恢复到对照水平，而雄蛾体内甘油酯含量需要3天才能达到对照水平（图3）。粘虫属于成虫期补充营养的昆虫，前人对这类昆虫的研究表明，取食对生殖具有重要的作用。一方面取食本身为昆虫生命活动提供物质基础，另一方面取食行为和食物刺激可能作为激活内分泌系统的信号；龚和和翟启慧（1979）研究认为，鳞翅目成虫期的取食可能与卵黄发生的激素调控有关。但罗礼智等（1999）的研究结果表明，并不是成虫任何时期补充营养都对粘虫的生殖有促进作用。本研究结果也进一步说明，不同日龄蛾飞行对能源物质积累的影响程度是不同的。

2.2　飞行对粘虫咽侧体活性的影响

对不同日龄粘虫飞行12 h后咽侧体活性的测定结果表明（图4），1日龄成虫在飞行后饲养12 h，处理组的咽侧体活性与对照相近，36 h后已高于对照2倍以上，60 h后处理粘虫的咽侧体活性已是对照的10倍，其差异达到极显著水平；处理组咽侧体的活性在飞行后108 h达到其峰值（是对照的2倍多），之后便开始缓慢下降。这种结果表明，1日龄的飞行处理能明显刺激粘虫咽侧体的活性，从而使咽侧体提前分泌保幼激素，并显著增加保幼激素的滴度。3日龄飞行后12 h及36 h处理组的咽侧体活性高于对照，尔后变化不大。5日龄的飞行处理对咽侧体的活性影响不大，与对照组差异不明显。

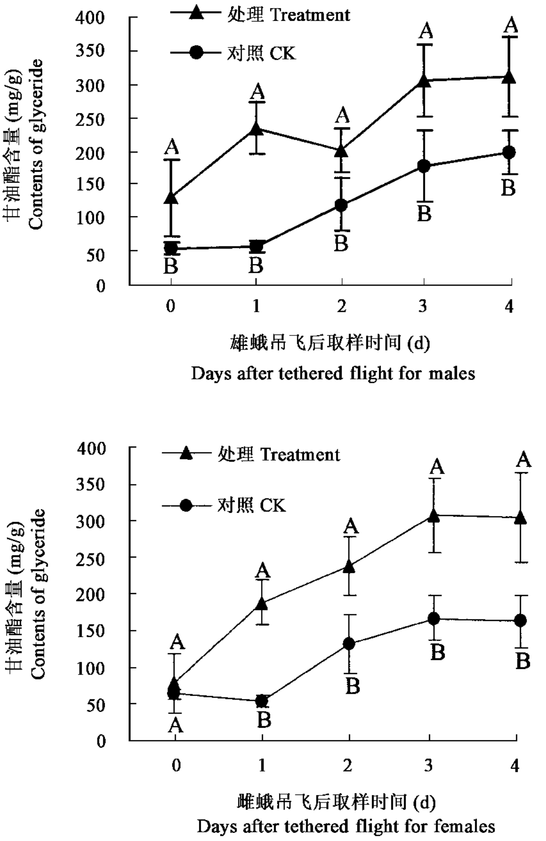

图1　1日龄粘虫蛾吊飞12 h后甘油酯含量的变化

Fig. 1　Variation in glyceride of *Mythimna separata* moths following 12-hour tethered flight on the 1st day after emergence

数值为平均值±标准差（$n=6$），图中不同的字母表示其在1%水平上的差异显著性，下同。

Data are presented as mean ± *SD*（$n=6$）；data with different letters are significantly different at 1% level. The same below.

2.3　飞行对粘虫背纵肌重量的影响

由于昆虫的飞行肌在飞行后某一特定的时期发生降解，这些降解的飞行肌可能有一部分参与昆虫的生殖行为（李克斌等，2001）。保幼激素的分泌也是飞行肌降解的信号（Kobayashi and Ishikawa，1994）。因此观察飞行肌是否降解也可以从侧面了解保幼激素的分泌情况。对不同日龄雌蛾飞行12 h后飞行肌重量变化的测定结果显示，不同日龄飞行对飞行肌的重量变化影响不同（图5）。1日龄雌蛾飞行6天后飞行肌干重已经明显低于对照；1日龄的飞行活动会导致飞行肌的降解提前发生。而3、5日龄的飞行活动对飞行肌干重影响则不明显。此结

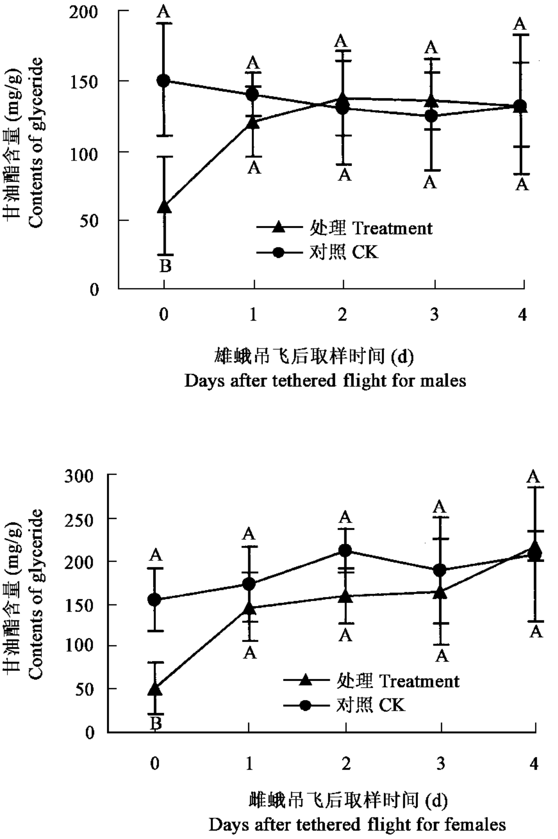

图 2　3 日龄粘虫蛾吊飞 12 h 后甘油酯含量的变化

Fig. 2　Variation in glyceride of *Mythimna separata* moths following 12-hour tethered flight on the 3rd day after emergence

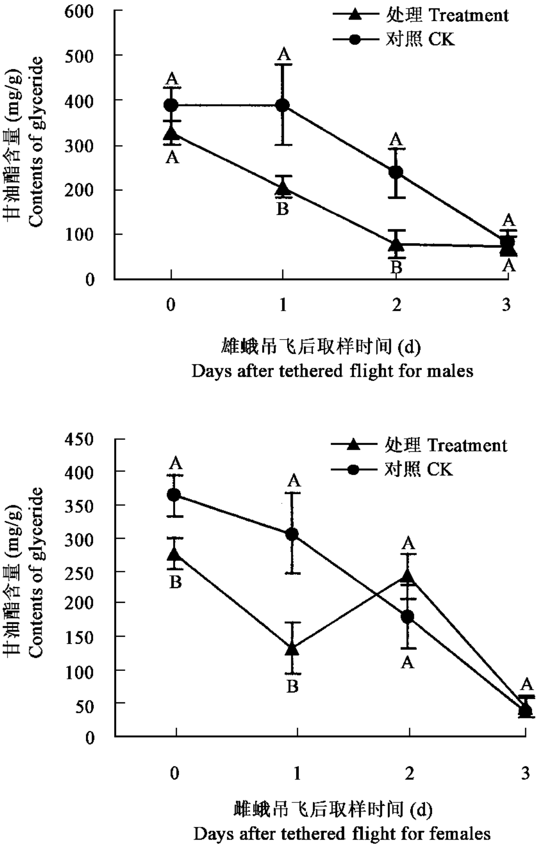

图 3　5 日龄粘虫蛾吊飞 12 h 后甘油酯含量的变化

Fig. 3　Variation in glyceride of *Mythimna separata* moths following 12-hour tethered flight on the 5th day after emergence

果也从另一方面说明，1 日龄的飞行会使粘虫雌蛾咽侧体提前分泌保幼激素。

3　讨论

由本研究结果看出，不同日龄粘虫的飞行活动对其能源物质的积累及保幼激素的分泌产生不同的影响。尤其以 1 日龄蛾的飞行对粘虫这两方面产生的影响最大，1 日龄蛾的飞行使飞行个体甘油酯的积累明显高于对照，刺激保幼激素提前分泌，而且诱导飞行肌的降解提前发生。豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 飞行肌的降解与保幼激素关系密切，用保幼激素类似物处理能诱导其飞行肌发生降解（Rankin and Burchsted，1992）。这与本研究结果有相似之处，1 日龄飞行处理的粘虫在飞行后 6 天飞行肌开始降解，而该处理粘虫体内保幼激素滴度也明显高于不飞行个体。从这种结果可以推断，粘虫体内保幼激素的分泌也是飞行肌发生降解的信号，其滴度的量起着重要的调控作用。

有关激素对昆虫生殖调控在多种昆虫中有所研究，昆虫卵成熟过程中存在的最为常见的调控机制是卵黄蛋白的合成受保幼激素的促进（Koeppe *et al*.，1985），这种机制存在于至今所有已研究的昆虫之中。而且在有些种类中，保幼激素对卵黄蛋白合成的促进还表现出是卵巢成熟的唯一调控机制。有人认为，鳞翅目昆虫成虫期的取食可能与卵黄发生的激素调控有关，斑蝶 *Danaus plexippus* 的卵黄发生受到保幼激素特异性促进作用（Barker and Herman，1973）；玉米穗夜蛾 *Helicoverpa zea* 的卵黄发生完全受保幼激素的调控，并且只有保幼激素才直接涉及卵的成熟，卵黄蛋白的合成对于保幼激素有很强的依赖性（Satyanaryana *et al*.，1992）；一点粘虫 *Pseudaletia unipuncta* 卵黄发生的调控机制与玉米穗夜蛾非常相似，结果表明保幼激素是调控卵黄发生的关键因子（Cusson *et al*.，1994）。粘虫和一点粘虫是非常近似的种，其激素对卵黄发生的调控方式可能相似。

目前有关飞行对昆虫生殖的影响作用研究得不

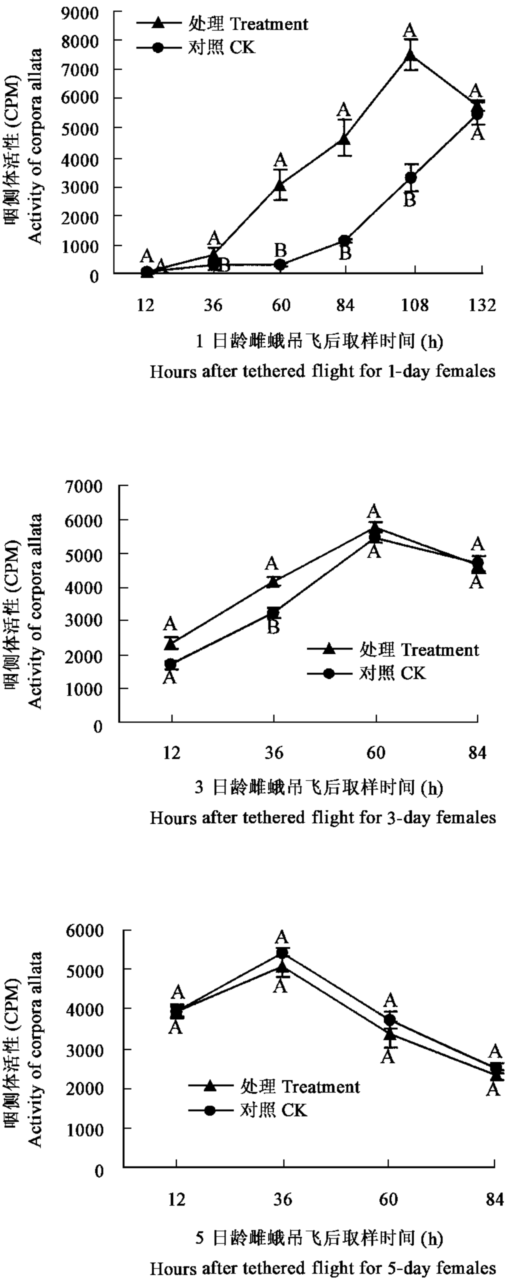

图 4　不同日龄粘虫雌蛾吊飞 12 h 后雌蛾咽侧体活性的变化

Fig. 4　Variation in activity of the corpora allata *in vitro* of the females *Mythimna separata* following 12-hour tethered flight on different days after emergence

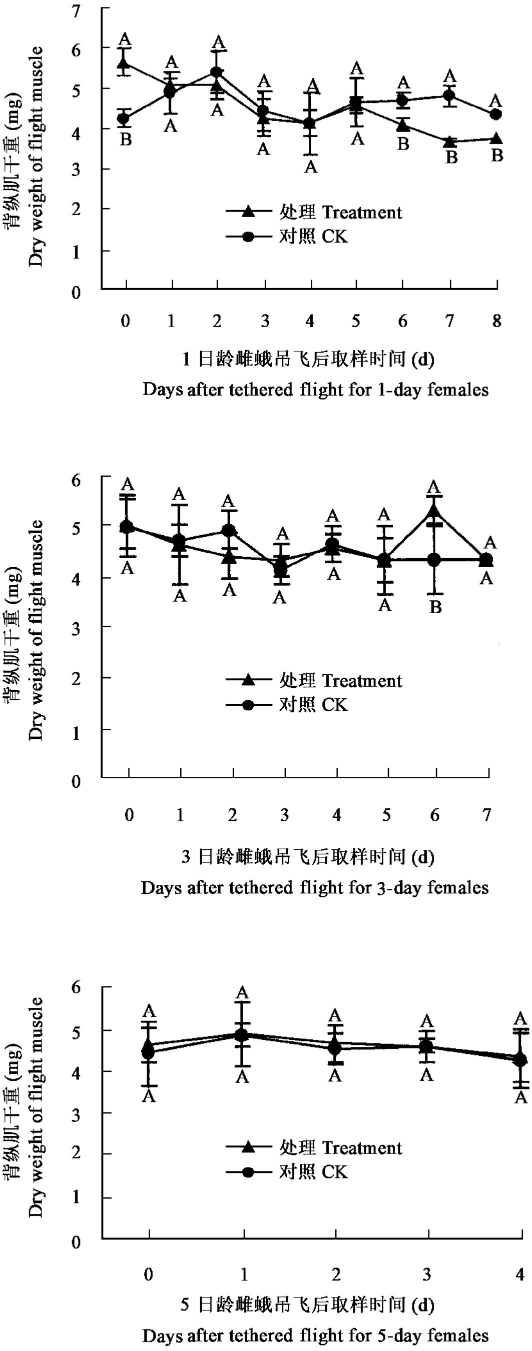

图 5　不同日龄粘虫雌蛾吊飞 12 h 后背纵肌干重的变化

Fig. 5　Variation in the dry weight of indirect flight muscle of the females *Mythimna separata* following 12-hour tethered flight on different days after emergence

多。Kennedy（1986）、Rankin（1991）等的研究认为，迁飞期间，昆虫的生殖系统会受到暂时抑制，迁飞结束后，卵巢会很快发育成熟、产卵。对于昆虫飞行后卵巢发育加快的原因，Highnam（1964）等对飞蝗的研究结果表明，咽侧体活性的周期性变化与卵子发育的关系受飞行活动的影响，表明飞行可促进神经内分泌细胞分泌促性腺激素，从而加速卵巢的成熟。而粘虫的卵巢发育也受保幼激素的调控（吴秋雁和郭郛，1963）。本研究结果显示，1 日龄蛾的飞行行为能刺激保幼激素提前分泌。这也是为什么 1 日龄蛾飞行使粘虫产卵提前的原因。实验证实，补充营养与粘虫的飞行和生殖关系非常密切。3 日龄飞行粘虫能源物质的恢复不能达到高于对照的水平；此外

该日龄的飞行对咽侧体的活性影响也难以达到与对照相同的水平。5 日龄飞行粘虫能源物质的恢复情况始终低于对照；咽侧体的活性差别也不太明显。因此推测粘虫在 1～3 日龄飞行既不影响生殖又可有效地远距离扩散。飞行对生殖的影响并不是笼统的，也就是说不是所有龄期成虫的飞行都会刺激咽侧体的活性，而只是在某一特定时期的飞行行为才会对咽侧体的激活有正面效应。推测这种效应应该有一个敏感时期，超过该时期，飞行将失去对咽侧体的活化甚至会产生相反的效果。本实验结果表明粘虫咽侧体活化的敏感期在 1～3 龄，这也是该研究对前人研究的重要补充。

参考文献（References）

Barker JF，Herman HS，1973. On the neuro-endocrine control of ovarian development in the monarch butterfly. *J. Exp. Zool.*，183：1－10.

Cockbain AJ，1961. Viability and fecundity of alate alienicolae of *Aphis fabae* Scop. after flights to exhaustion. *J. Exp. Biol.*，38：181－187.

Cusson M，Kerry CGY，Waytt GR，Tobe SS，Mcneil JN，1994. Regulation of vitellogenin production in armyworm moth，*Pseudalitia unipuncta*. *J. Insect Physiol.*，40（2）：129－136.

Dingle H，1996. Migration：The Biology of Life on the Move. New York：Oxford University Press.

Feyereisen R，Tobe SS，1981. A rapid partition assay for routine analysis of juvenile hormone released by insect corpora allata. *Anal. Biochem.*，111：372－375.

Gong H，Zhai QH，1979. Insect vitellogenin and vitellogenesis. *Acta Entomologica Sinica*，22（2）：219－236.［龚和，翟启慧，1979. 昆虫卵黄蛋白和卵黄发生. 昆虫学报，22（2）：219－236］

Gunn A，Gatehouse AG，Woodrow KP，1989. Trade-off between flight and reproduction in the African armyworm moth *Spodoptera exempta*. *Physiol. Entomol.*，14：419－427.

Highnam KC，Haskell PT，1964. The endocrine system of isolated and crowed *Locusta* and *Schistocerca* in relation to oocyte growth，and the effects of flying upon maturation. *J. Insect Physiol.*，10：849－864.

Kennedy JS，1986. Migration behavioral and ecological. In：Rankin MA ed. Migration：Mechanism and Adaptive Significance. *Contib. Mar. Sci.*，27（Suppl.）：5.

Kobayashi M，Ishikawa H，1994. Involvement of juvenile hormone and ubiquitin-dependent proteolysis in flight muscle breakdown of alate aphid（*Acyrthosiphon pisum*）. *J. Insect Physiol.*，40（2）：107－111.

Koeppe JK，Fuchs M，Chen TT，Hunt LM，Kovalick GE，Briers T，1985. The role of juvenile hormone in reproduction. In：Kerkut GA，Gilbert LI eds. Comprehensive Insect Physiology，Biochemistry and Pharmacology. New York：Pergamon. 165－203.

Li KB，Luo LZ，1998. Effects larval rearing density on energetic reserves in the adults of oriental armyworm *Mythimna separata*（Walker）. *Acta Entomologica Sinica*，41（3）：250－257.［李克斌，罗礼智，1998. 粘虫幼虫密度对成虫能源物质含量的影响. 昆虫学报，41（3）：250－257］

Li KB，Luo LZ，Cao YZ，Hu Y，2001. Study on the relationship between degenerating flight muscle and reproduction in the armyworm，*Mythimna separata*（Walker）. *Chinese Science Abstracts*，7（5）：662－664.［李克斌，罗礼智，曹雅忠，胡毅，2001. 粘虫飞行肌降解与生殖关系的初步研究. 中国学术期刊文摘，7（5）：662－664］

Luo LZ，Li KB，Jiang XF，Hu Y，2001. Regulation of flight capacity and contents of energy substances by methoprene in the moths of oriental armyworm，*Mythimna separata*. *Entomologia Sinica*，8（1）：63－72.

Luo LZ，Jiang XF，Li KB，Hu Y，1999. Influences of flight on reproduction and longevity of the oriental armyworm，*Mythimna separata*（Walker）. *Acta Entomologica Sinica*，42（2）：150－158.［罗礼智，江幸福，李克斌，胡毅，1999. 粘虫飞行对生殖及寿命的影响. 昆虫学报，42（2）：150－158］

Mason L，Johnson SL，Woodring JP，1992. Influence of carbohydrate deprivation and tethered flight on stored lipid，fecundity and survivorship of the soybean looper（Lepidoptera：Noctuidae）. *Environ. Entomol.*，18：1 090－1 094.

Nijhiout MM，Riddiford LM，1994. The control of egg maturation by juvenile hormone in the tobacco hornworm moth，*Manduca sexta*. *Biol. Bull.*，146：377－392.

Rankin MA，1991. Endocrine effects on migration. *American Zoologist*，31（21）：7－230.

Rankin MA，Burchsted CA，1992. The cost of migration in insects. *Annu. Rev. Entomol.*，37：533－559.

Rggy TD，1996. Flight of *Oscinella frit* L.（Diptera，Chloropidae）female in relation to age and ovary development. *Entomol. Exp. Appl.*，9：74－84.

Satyanaryana K，Yu JH，Bhaskaran G，Dahm KH，Meola R，1992. Regulation of vitellogenin synthesis by juvenile hormone in the corn earworm，*Helicoverpa zea*. *Invert. Reprod. Devel.*，21：169－178.

Shayya E，Shire PD，Zimouska G，Plotkin S，Young NJ，Recesand HH，Silhacek DL，1993. Declining ecdysteroid levels are temporally correlated with the initiation of vitellogenesis during pharate adult development in the Indian meal moth，*Plodia interpunctella*. *Insect Biochem. Molecul. Biol.*，23（1）：153－159.

Shirk PD，Bean DW，Millemann AM，Brookes VJ，1990. Ecdysteroids control vitellogenesis and egg maturation in pharate adult females of the females of the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*，15：183－189.

Willers JL，Schneider JC，Ramaswamy SB，1987. Fecundity，longevity and caloric patterns in female *Heliothis virescens*：changes with age due to flight and supplemental carbohydrate. *J. Insect Physiol.*，33：803－808.

Wu QY，Guo F，1963. The endocrine role of the corpora allata on the egg maturation in the armyworm，*Leucania separata* Walker（Lepidoptera）. *Acta Entomologica Sinica*，12（4）：402－489.［吴秋雁，郭郛，1963. 粘虫咽侧体对卵巢发育与成熟的作用. 昆虫学报，12（4）：402－489］

（责任编辑：黄玲巧）